

**This Page Is Inserted by IFW Operations
and is not a part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

**Defective images within this document are accurate representations of
the original documents submitted by the applicant.**

Defects in the images may include (but are not limited to):

- **BLACK BORDERS**
- **TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- **FADED TEXT**
- **ILLEGIBLE TEXT**
- **SKEWED/SLANTED IMAGES**
- **COLORED PHOTOS**
- **BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS**
- **GRAY SCALE DOCUMENTS**

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

**As rescanning documents *will not* correct images,
please do not report the images to the**

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 05-058881
(43)Date of publication of application : 09.03.1993

(51)Int. CI. A61K 9/50
A61K 7/00
A61K 47/36
C08B 37/08

(21)Application number : 03-240492 (71)Applicant : SHISEIDO CO LTD
(22)Date of filing : 27.08.1991 (72)Inventor : HARIKI TOSHIO
YAMAGUCHI MICHIIRO

(54) HYALURONIC ACID GEL AND ITS PRODUCTION

(57)Abstract:

PURPOSE: To obtain the subject gel, readily degradable by living bodies, excellent in safety and useful as foods, medicines, etc., by adding a specific water-soluble organic solvent to a hyaluronic acid solution.

CONSTITUTION: The objective gel is obtained by adding 20-80wt.% water-soluble organic solvent (e.g. 50% aqueous solution of ethanol) at pH 2.0-3.8 to a hyaluronic acid solution prepared by dissolving the hyaluronic acid in, e.g. water or ethyl alcohol or further preferably dispersing the hyaluronic acid solution in an oily base such as liquid paraffin, stirring the resultant mixture and then adding the above-mentioned water-soluble organic solvent to the prepared mixture.

LEGAL STATUS

[Date of request for examination] 13.01.1998

[Date of sending the examiner's decision
of rejection]

[Kind of final disposal of application
other than the examiner's decision of
rejection or application converted
registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number] 3051215

[Date of registration] 31.03.2000

[Number of appeal against examiner's
decision of rejection]

[Date of requesting appeal against
examiner's decision of rejection]

[Date of extinction of right]

Copyright (C); 1998,2000 Japan Patent Office

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公 開 特 許 公 報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平5-58881

(43) 公開日 平成 5 年 (1993) 3 月 9 日

(51) Int.Cl. ⁵	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
A 6 1 K 9/50	L	7329-4C		
7/00	J	8615-4C		
47/36	D	7329-4C		
	F	7329-4C		
C 0 8 B 37/08	Z	8615-4C		

審査請求 未請求 請求項の数 6 (全 17 頁)

(21) 出願番号 特願平3-240492

(22) 出願日 平成 3 年 (1991) 8 月 27 日

(71) 出願人 000001959

株式会社資生堂

東京都中央区銀座 7 丁目 5 番 5 号

(72) 発明者 梁木 利男

神奈川県横浜市港北区新羽町 1050 番地 株式会社資生堂研究所内

(72) 発明者 山口 道広

神奈川県横浜市港北区新羽町 1050 番地 株式会社資生堂研究所内

(74) 代理人 井理土 岩橋 祐司

(54) 【発明の名称】 ヒアルロン酸ゲル及びその製造方法

(57) 【要約】

【構成】 水性液を含む硬化ヒアルロン酸よりなることを特徴とするヒアルロン酸ゲル。

【効果】 生体により容易に分解可能でしかも安全なゲルを提供することができる。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 水性液を含む硬化ヒアルロン酸よりなることを特徴とするヒアルロン酸ゲル。

【請求項2】 ヒアルロン酸溶液を、pH2.0～3.8、20～80重量%水溶性有機溶剤存在下におくことを特徴とするヒアルロン酸ゲルの製造方法。

【請求項3】 20重量%以上の水溶性有機溶剤中に保持されることを特徴とするヒアルロン酸ゲル。

【請求項4】 ヒアルロン酸ゲルを油性基剤でコーティングしたことを特徴とするヒアルロン酸ゲル。

【請求項5】 ヒアルロン酸溶液を油性基剤中に分散させ、攪拌した後、pH2.0～3.8、20～80重量%の水溶性有機溶剤を添加し、ヒアルロン酸をゲル化することを特徴とするコーティングヒアルロン酸ゲルの製造方法。

【請求項6】 請求項2記載の方法において、界面活性剤を添加したヒアルロン酸溶液を、非水溶性有機溶剤中に分散させることを特徴とする微細ヒアルロン酸ゲルの製造方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】 本発明はゲル、特に人体中にも含まれるヒアルロン酸を用いて形成したヒアルロン酸ゲルに関する。

【0002】

【従来の技術】 高分子有機物質を用い、各種ゲル組成物が形成され、食品、医薬、医薬部外品等各種分野に用いられている。これらのゲル組成物は、特に生体内投与される場合には、一般に天然物ないし天然物の加工品が用いられているが、生体に負担を与えずに分解可能なゲル組成物が望まれる。

【0003】

【発明が解決しようとする課題】 ところで、従来のゲルは天然物由来の場合にも、その起源が植物である場合が多く、特に人体に適用される場合には、より人体内成分に近い成分によるゲルの形成が要望されている。一方、人体を代表とする生体には、高分子物質としてコンドロイチン硫酸或いはヒアルロン酸等が知られており、特にヒアルロン酸は微生物による大量生産も可能であり、各種薬効も有することから、近年注目を集めている。

【0004】 しかしながら、ヒアルロン酸は曳糸性、粘弾性を有することは知られている（特開昭60-233101号等）ものの、未だゲル形成に用いることはできないものであった。本発明は前記従来技術の課題に鑑みなされたものであり、その目的は本来、生体内であるヒアルロン酸を用いたゲル及びその製造方法を提供することにある。

【0005】

【課題を解決するための手段】 前記目的を達成するため本発明者らが鋭意検討した結果、生体内成分であるヒ

アルロン酸を特定条件下におくと、ゲルを形成することを見出し、本発明を完成するに至った。

【0006】 すなわち、本出願の請求項1記載のヒアルロン酸ゲルは、水性液を含む硬化ヒアルロン酸よりなることを特徴とする。

【0007】 また、請求項2記載のヒアルロン酸ゲルの製造方法は、ヒアルロン酸溶液を、pH2.0～3.8、20～80重量%水溶性有機溶剤存在下におくことを特徴とする。

10 【0008】 請求項3記載のヒアルロン酸ゲルは、20重量%以上の水溶性有機溶剤中に保持されることを特徴とする。

【0009】 請求項4記載のヒアルロン酸ゲルは、ヒアルロン酸ゲルを油性基剤でコーティングしたことを特徴とする。

【0010】 請求項5記載のコーティングヒアルロン酸ゲルの製造方法は、ヒアルロン酸溶液を油性基剤中に分散させ、攪拌した後、pH2.0～3.8、20～80重量%の水溶性有機溶剤を添加し、ヒアルロン酸をゲル化することを特徴とする。

20 【0011】 請求項6記載の微細ヒアルロン酸ゲルの製造方法は、界面活性剤を添加したヒアルロン酸溶液を、非水溶性有機溶剤中に分散させることを特徴とする。

【0012】 以下、本発明の構成を更に詳細に説明する。本発明者らがヒアルロン酸の特性について検討したところ、ヒアルロン酸水溶液を低pH下で水溶性有機溶剤に接触させることによりゲル化することを見出した。前記水溶性有機溶剤には脱水性もあるが、ゲル形成前のヒアルロン酸水溶液よりヒアルロン酸ゲルの方が重量が減少するとは限らない。このため、単に脱水によるゲル化とは考えられず、本発明者らは低pH下で水溶性有機溶剤に接触させた場合に形成されるゲル状ヒアルロン酸を硬化ヒアルロン酸と呼ぶこととした。

【0013】 なお、前記水溶性有機溶剤としては、メタノール、エタノール、イソプロパノール、アセトン等が挙げられ、この内人体に対する影響が少ない点等からエタノールが好ましい。この水溶性有機溶剤の濃度は20～80重量%であることが好適である。20重量%以下であると、ゲル化が起こらず、80重量%以上であるとヒアルロン酸が沈殿してしまうことが多い。

【0014】 また、ゲル化させる際のpHは2.0～3.8が好適である。この範囲を越えるとゲル化が生じず、溶解ないし沈殿を生じてしまうことが多い。

【0015】 なお、ヒアルロン酸を溶解する溶媒としては、水はもちろん、エチレングリコール、グリセリン等を用いることも可能である。そして、ヒアルロン酸ゲルには、ヘパリン、コラーゲン等の他の高分子を共存させることによりゲル構造が強化される。また、抗ヒスタミン剤等の薬剤を添加することも可能である。

40 【0016】 また、ヒアルロン酸ゲルにコーティング等

3

を施さない場合には、該ヒアルロン酸ゲルを水中に投入すると徐々に溶解する。しかし、油性物質等でヒアルロン酸ゲルをコーティングすることにより、耐水性が大幅に向上する。この際に用いられる油性物質には特に制限がなく、流動パラフィン、油脂、脂肪酸、脂肪酸エステル、シリコン油等各種の成分を用いることができる。また、コーティングを施さないヒアルロン酸ゲルは、20重量%以上、好ましくは45%以上の水溶性有機溶剤中に保持することが好適である。この状態では極めて長時間にわたり安定なゲルが維持される。

【0017】

【実施例】以下、図面に基づき本発明の好適な実施例を説明する。なお、本発明は実施例に限定されるものではない。また配合量は特に指定がない限り、重量%で示す。

【0018】【ヒアルロン酸硬化ゲルの製造方法】

pHと粘度

まず、pHとヒアルロン酸の粘度の関係について検討した。すなわち、0.1~1重量%のヒアルロン酸溶液を、塩酸添加ないし0.1Mリン酸緩衝液でpHを調整し粘度を測定した。なお、粘度はE型粘度計を用い、25℃で測定した。

【0019】結果を図1（塩酸調整）及び図2（リン酸緩衝液）に示す。同図より明らかなように、pH0から急激に粘度が上昇し、pH2.3~2.5附近で極大値を示し、pH4附近で極小値を示した後、更に粘度は上昇する。そこで、本発明者らはpH2.3附近の粘度極大値に注目し、このpH域でヒアルロン酸が何等かの構造変化を起こすものと考えて更に検討を進めた。

【0020】ヒアルロン酸濃度とゲル形成能

一般にゲルを形成するには加熱-冷却等のトリガーが要求される。そこで、本発明者らはゲル形成の一手段として水溶性有機溶剤の添加を試みた。この結果、前述した特異的pH域を中心として良好なゲルを形成することを見出した。

【0021】図3には水溶性有機溶剤として50%エタノールを用い、ヒアルロン酸（平均分子量120万）の濃度を変化させてゲルを形成した場合の、該ゲルのヤング率が示されている。同図より明らかなように、ヒアルロン酸濃度1.0%の場合にはpH2.0~3.3程度でゲルが形成され、pH2.0より低い場合にはヒアルロン酸が沈殿してしまい、pH3.3を越える場合には溶解してしまう。

【0022】また、ヒアルロン酸濃度0.6%の場合にはpH2.0~2.8でゲルが形成され、ヒアルロン酸濃度0.3%の場合にはpH2.1~2.6でゲルが形成されるが、ヒアルロン酸濃度0.1%の場合にはゲルが形成されない。なお、ゲルのヤング率はいずれのヒアルロン酸濃度でも、ゲル形成領域ではpHが低いほど高くなる傾向にある。

4

【0023】一方、ゲルの収縮率は図4に示すようになる。すなわち、ヒアルロン酸溶液をエタノール溶液に投入する前の重量を W_0 、投入して形成されたゲルの重量を W とする。従って、 W/W_0 は有機溶剤投入前後での保水比を示す。

【0024】同図より明らかなように、前記ヤング率とは逆の結果を示し、いずれの濃度領域でもpHが上昇するほど W/W_0 が大きくなる傾向にある。すなわち、pH2.0~2.5付近では $W/W_0 < 1$ であり、ゲル化により脱水が起きていることが示唆されるが、pH2.5以上では $W/W_0 > 1$ であり、50%アルコール水溶液ではむしろ吸液が行なわれていることが示唆される。このように $W/W_0 > 1$ であってもゲル形成が行なわれることから、有機溶剤の添加によるゲル化は単に脱水によるものではなく、ヒアルロン酸自体の構造変化が要因であることが理解させる。

【0025】また、図5にはゲル1cm³当りのヒアルロン酸重量%（ゲル化後：Cf）が示されている。同図より、ヒアルロン酸の濃度が高いほど、またpHが低いほど単位体積当りのヒアルロン酸量は減少しており、含液率の高いゲルを得ることができる。以上の結果、エタノール50%区ではゲル形成領域はヒアルロン酸濃度が高いほど広がるが、ゲル形成が行なわれるpH域は2.0~3.3程度である。またヒアルロン酸0.1%ではゲル化せず、0.3%以上が必要である。

【0026】次にエタノール濃度を80%にして同様の試験を行った。結果を図6~8に示す。各ゲルの物性の傾向自体は前記エタノール濃度50%の場合とほぼ同様であるが、ゲル形成pH領域はむしろヒアルロン酸濃度が高くなるに従って狭くなる傾向にあり、ヒアルロン酸濃度1.0%の場合にはpH2.0~2.8、ヒアルロン酸濃度0.6%の場合にはpH2.0~3.0、ヒアルロン酸濃度0.3%の場合にはpH2.0~3.8程度でゲル形成が可能で、更にヒアルロン酸0.1%の場合にもpH2.3でゲル形成が可能であることが確認された。なお、エタノール濃度が80%の場合にはゲル形成領域以上ないし以下のpH濃度ではいずれも沈殿を生じてしまう。

【0027】また、エタノール50%の場合と比較して W/W_0 は小さくなり、一方脱水が進行することから単位ゲル容積当りのヒアルロン酸濃度及びヤング率は増加する。以上の結果から、ゲル形成に必要なヒアルロン酸濃度は0.1%が下限であり、ヒアルロン酸濃度0.3%未満では有機溶剤濃度を80%程度とすることが必要である。また、ゲル形成の際のpHは2.0~3.8程度が好適である。

【0028】有機溶剤濃度とゲル形成能

次に水溶性有機溶剤濃度とゲル特性について検討を進めた。すなわち、20~100%のエタノール濃度の水溶液に3N-HClを滴下し、pHを2.35±0.03

に調製した液100mlを、あらかじめビーカーの中にとった1%ヒアルロン酸(平均分子量120,000)水溶液5gの上に上層させ、ゲル化させた。

【0029】図9にはエタノール濃度と、ヤング率、保水比及びゲル中ヒアルロン酸濃度の関係が示されている。同図よりエタノール濃度が40%~80%でゲル形成が可能であることが理解される。

【0030】なお、ヒアルロン酸濃度を低下させれば、エタノール濃度が90%程度でもゲル形成が可能であるが、脱水作用によりゲル中ヒアルロン酸濃度は殆ど変化がなくなってしまう。このため、ヒアルロン酸ゲルを形成する際の現実的な有機溶剤濃度は40~80%である。

【0031】ヒアルロン酸の分子量とゲル形成能

次に、ヒアルロン酸の濃度とゲル形成能について検討した。図10にはヒアルロン酸の平均分子量を180万~58万とした場合に、pH2.35、エタノール濃度80%の条件下に形成されたゲルの特性を示す。同図より明らかなように、ヤング率はヒアルロン酸の濃度が高いほど、また分子量が大きいほど高くなる傾向が強い。

【0032】一方、図11に示すように保水比(W/W₀)は分子量が大きいほど小さくなる傾向にあるが、ヒアルロン酸の初期濃度(C₁)への依存は小さいことが理解される。なお、図12より明らかなように、ゲル単位容積当たり同一のヒアルロン酸濃度であると、ヤング率はヒアルロン酸の分子量にあまり依存しない。

【0033】以上のように本発明にかかるヒアルロン酸ゲルの形成方法によれば、生体内に普遍的に存在するヒアルロン酸を原料として良好なゲルを形成することができる。なお、本発明にかかるヒアルロン酸ゲルは、次に示すような各種処理が可能である。

【0034】コーティングゲル

本発明にかかるヒアルロン酸ゲルは、例えば油性基剤中でヒアルロン酸水溶液を分散させ、pH調整した有機溶剤を添加することにより、油性基剤によりコーティングされたゲルを形成することができ、気中安定性を向上させることも可能である。すなわち、流動パラフィン中に1%ヒアルロン酸溶液を添加し、ホモミキサーで攪拌する。この結果、流動パラフィン中に微細なヒアルロン酸が分散した状態が得られる。その後、pH2.4の50%エタノール水溶液を添加して攪拌・放置する。そして、余剰の流動パラフィンを除去し、ヒアルロン酸ゲルを得る。

【0035】このヒアルロン酸ゲルは流動パラフィンにコーティングされており、空气中に長時間放置してもゲル状態に変化を生じることが少なく、しかもゲルの微細化(粒子径100μm程度)を得ることができ、更に水中でも安定であるという利点を有する。

【0036】微細ゲル

非水溶性有機溶剤中に、界面活性剤を添加したヒアルロン酸溶液を分散させ、pH調整した有機溶剤を添加することにより、極めて微細なヒアルロン酸ゲルを形成することができる。すなわち、N-ヘキサン中に、SPAN 20™(界面活性剤) %を添加した1%ヒアルロン酸水溶液を投入し、500rpmでスターラ攪拌する。この結果、N-ヘキサン中に微細なヒアルロン酸溶液が分散した状態が得られる。そしてpH2.4の50%エタノール水溶液を添加して攪拌・放置する。この後、余剰のN-ヘキサンを除去し、ヒアルロン酸ゲルを得る。この場合には、粒子径10μm以下の微細ヒアルロン酸ゲルを得ることができる。

【0037】以上のようにして製造されたヒアルロン酸ゲルは、例えば次のような用途に用いることができる。

- (1)新剤型化粧料(マイクロスフィア、球状、紐状、膜状等)
- (2)安定なマルチプルエマルジョン(O/W/O型エマルジョン等)への配合
- (3)薬剤、保湿剤、コラーゲン等を内包したヒアルロン酸マイクロスフィア(プレシェーブローション、ネイルエナメル、ファンデーション等)
- (4)ヒアルロン酸/抗ヒスタミン剤の非アレルギー粉末点鼻薬等
- (5)ソフトカプセル(2層にして内相に油性薬剤を包含させる)

次に、これらのヒアルロン酸ゲルを応用したより具体的な実施例について説明する。

【0038】実施例1 ヒアルロン酸スクラブ入りクレンジングオイル

蒸留水10g、HCO-60(日本ケミカルズ株式会社製)1g、流動パラフィン15gより製造したO/W型エマルジョンに、等量の1%ヒアルロン酸水溶液(分子量130万)を加えた。次いで、その全量をシリコンオイル中に攪拌しながら加え、エマルジョン液滴としたところで、pH2.3の80%エタノールを滴下し、硬化エマルジョンを得た。これを10%NaOHで中和後、濾過回収し、真空乾燥して平均粒径500μmの流動パラフィン内包ヒアルロン酸スクラブを得た。別にビーガム(バンダービルト社製)4g、エマルエックス600-D10(日本エマルジョン株式会社製)8g、流動パラフィン88gより製造したオイルゲルを用意しておき、これに先の流動パラフィン内包ヒアルロン酸スクラブを分散させ、ヒアルロン酸スクラブ入りクレンジングオイルを得た。本実施例品は、ヒアルロン酸スクラブを配合しない場合より洗浄力が向上し、更に水を加えるとヒアルロン酸が溶け出すため、洗浄後、肌に潤いを与えることができる。

【0039】実施例2 ビタミンA-パルミテート内包ヒアルロン酸マイクロカプセル

1,3-ブチレングリコール25g、純水5g、HCO

60 2.5gの混合溶液に、ビタミンA-パルミテート5gを溶解した流動パラフィン50gをO/W乳化した。このエマルジョン20gに等量の1.5%ヒアルロン酸を溶解し、更にそれをシリコンオイル中へ攪拌下に分散した。これにpH2.0の90%エタノールを加え、エマルジョン液滴を硬化後、20%KOHで中和し、濾過、エタノール洗浄して、平均粒径200 μ mのビタミンA-パルミテート内包ヒアルロン酸マイクロカプセルを調製した。こうして得たマイクロカプセルを流動パラフィン中に分散させ、50℃保存におけるビタミンA-パルミテートの安定性を調べた。カプセル化せず、流動パラフィンに直接ビタミンA-パルミテートを溶解した系を対照として、液体クロマトにより残存率を分析した。その結果、対照の場合、一カ月後には40%程度しか残存していないのに対し、カプセル化した場合、80%以上残っていることが確認された。すなわち、カプセル化することでビタミンA-パルミテートの酸化が抑制された。

【0040】実施例3 リノール酸エチル内包ヒアルロン酸マイクロカプセル

ビタミンA-パルミテートの代わりにリノール酸エチルを用いることを除いて、実施例2と同様の操作で、リノール酸エチル内包ヒアルロン酸マイクロカプセルを調製した。本カプセルを流動パラフィン中に分散して、50℃における安定性試験を実施した結果、一カ月後でもリノール酸エチルが95%以上残存することを確認した。すなわち、実施例2と同様、カプセル化することで酸化が抑制された。

【0041】実施例4 薬物内包ヒアルロン酸微粉末

抗アレルギー剤であるフマル酸ケチフェン微粉末(250メッシュ篩下)1gを1.0%ヒアルロン酸水溶液10g中に均一に分散し、それを流動パラフィン中に滴下し、高速で攪拌した。これにpH2.4の60%メタノール水溶液を加え、液滴を固化した後中和し、濾過後

真空乾燥した。こうして得たフマル酸ケチフェン内包ヒアルロン酸粉末の平均粒径は約300 μ mであった。

【0042】

【発明の効果】以上説明したように本発明にかかるヒアルロン酸ゲルによれば、生体により容易に分解可能でしかも安全なゲルを提供することができる。

【図面の簡単な説明】

【図1】、

【図2】ヒアルロン酸溶液を低pHにおいた場合の、pHと粘度の関係を示す説明図である。

【図3】50%エタノール、低pHで形成したヒアルロン酸ゲルのヤング率を示す説明図である。

【図4】50%エタノール、低pHで形成したヒアルロン酸ゲルの保水比を示す説明図である。

【図5】50%エタノール、低pHで形成したヒアルロン酸ゲルの、単位ゲル容積中のヒアルロン酸量を示す説明図である。

【図6】80%エタノール、低pHで形成したヒアルロン酸ゲルのヤング率を示す説明図である。

【図7】80%エタノール、低pHで形成したヒアルロン酸ゲルの保水比を示す説明図である。

【図8】80%エタノール、低pHで形成したヒアルロン酸ゲルの、単位ゲル容積中のヒアルロン酸量を示す説明図である。

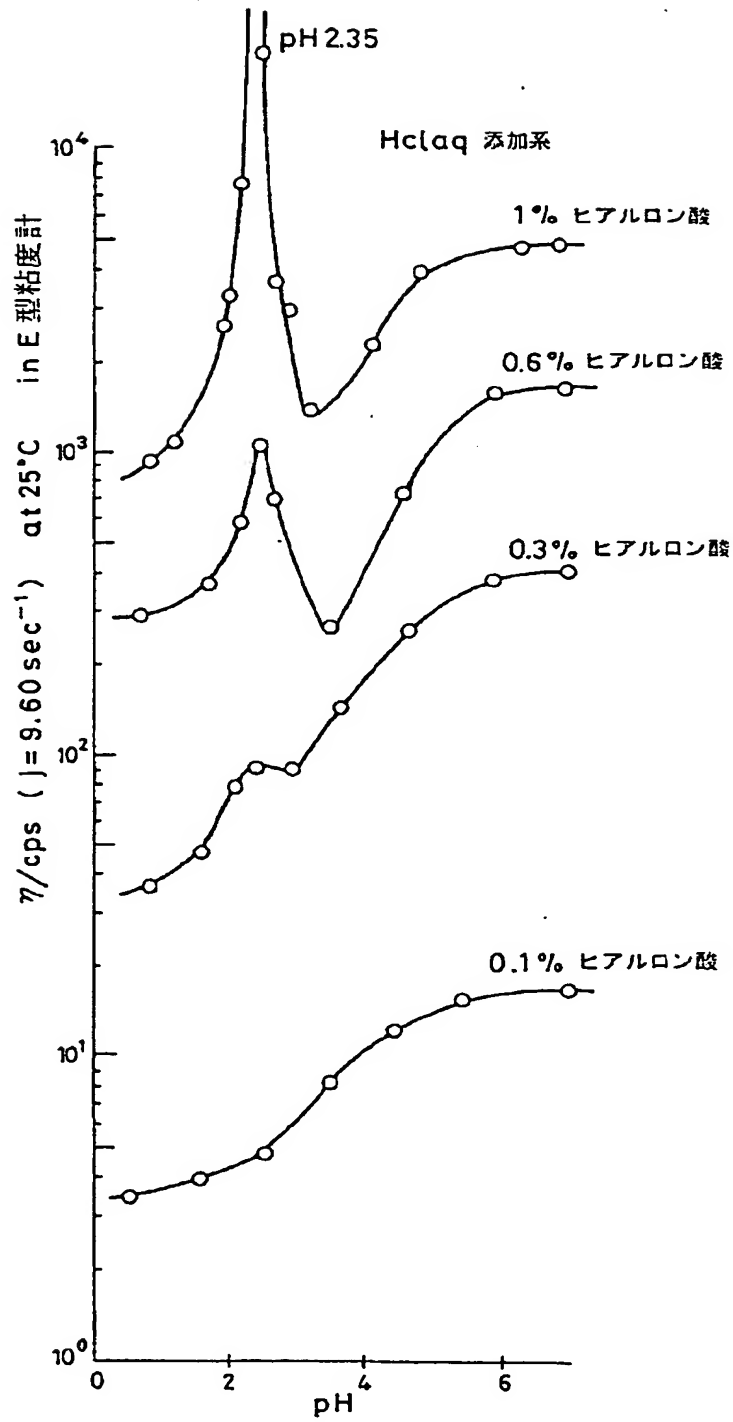
【図9】エタノール濃度と、ヒアルロン酸ゲルのヤング率、保水比、単位ゲル容積中のヒアルロン酸量を示す説明図である。

【図10】各種分子量のヒアルロン酸のゲル形成前濃度とヤング率の関係を示す説明図である。

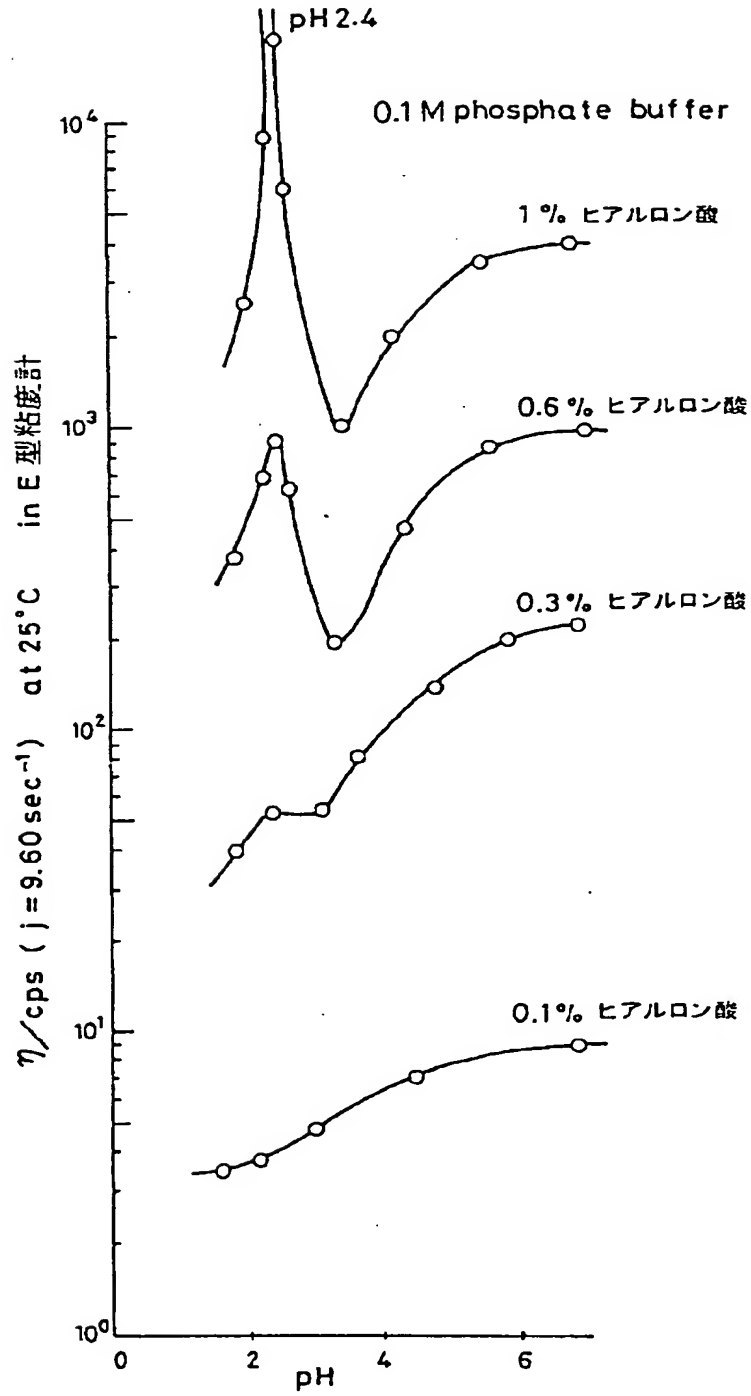
【図11】各種分子量のヒアルロン酸のゲル形成前濃度と保水比の関係を示す説明図である。

【図12】各種分子量のヒアルロン酸ゲルの、単位ゲル容積中のヒアルロン酸量を示す説明図である。

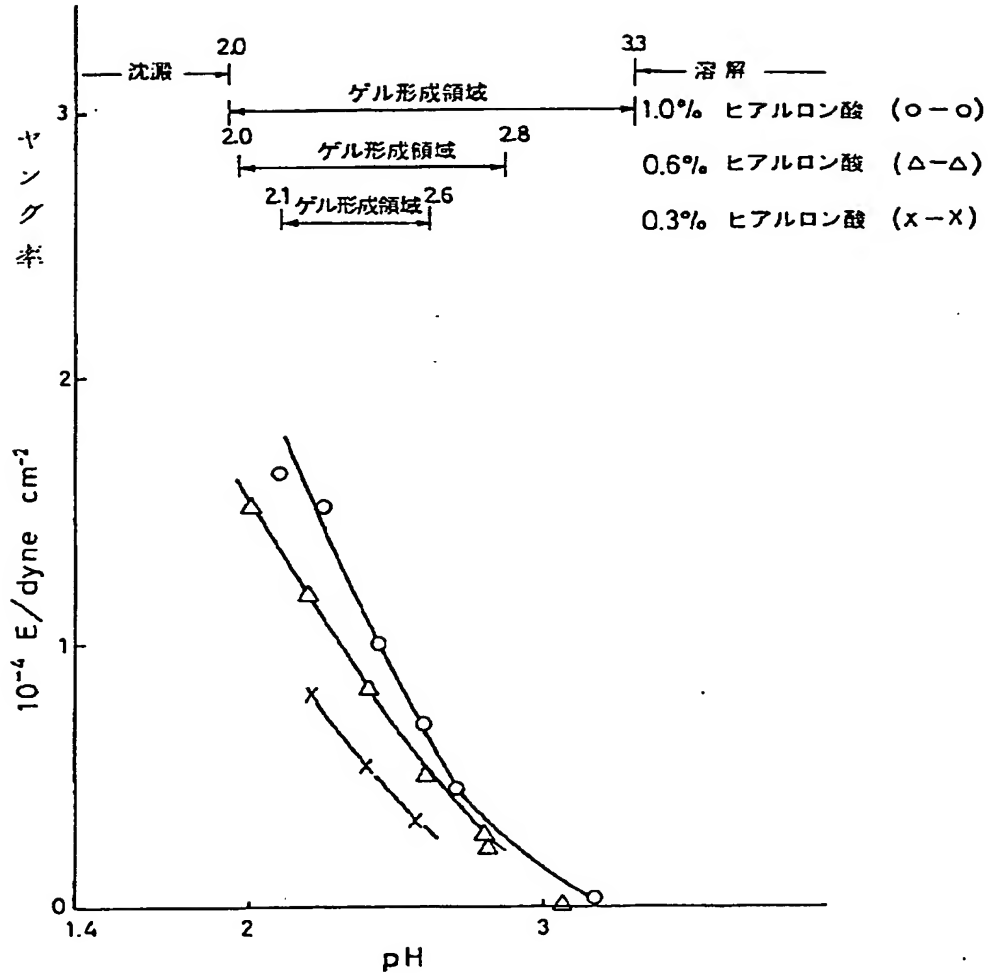
【図1】



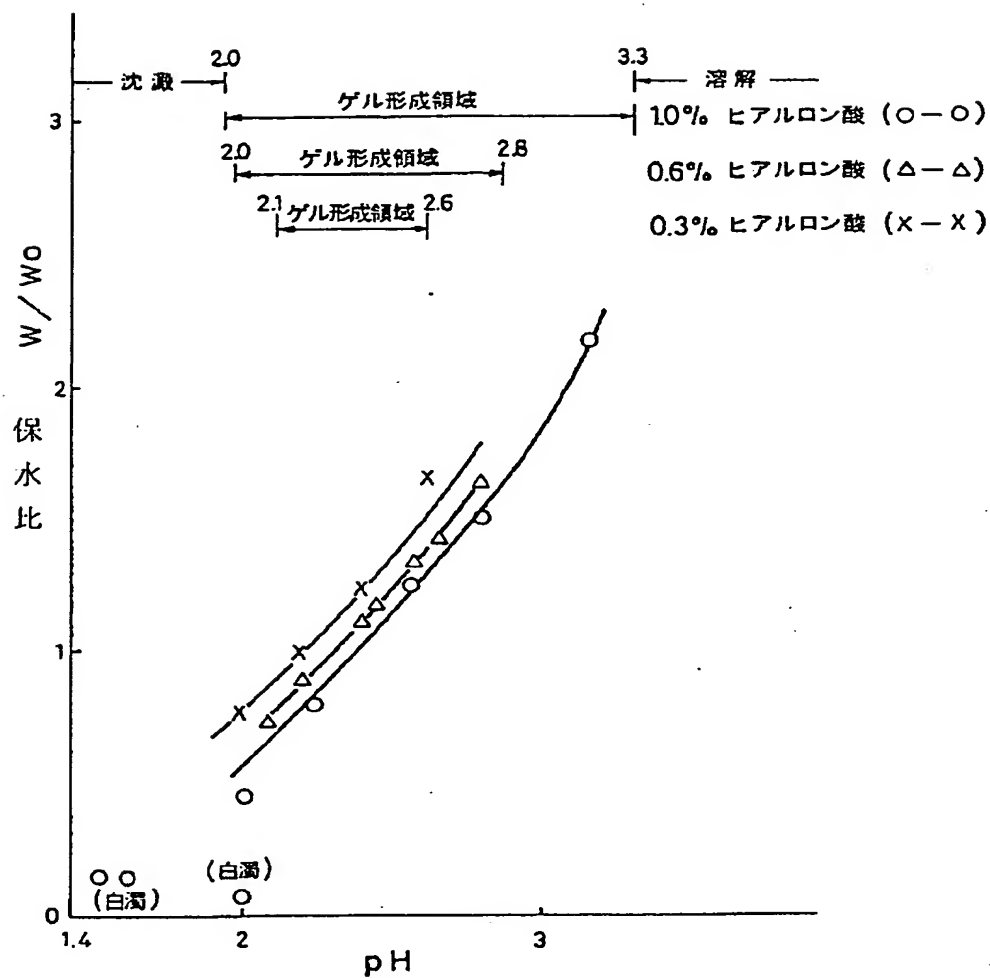
【図2】



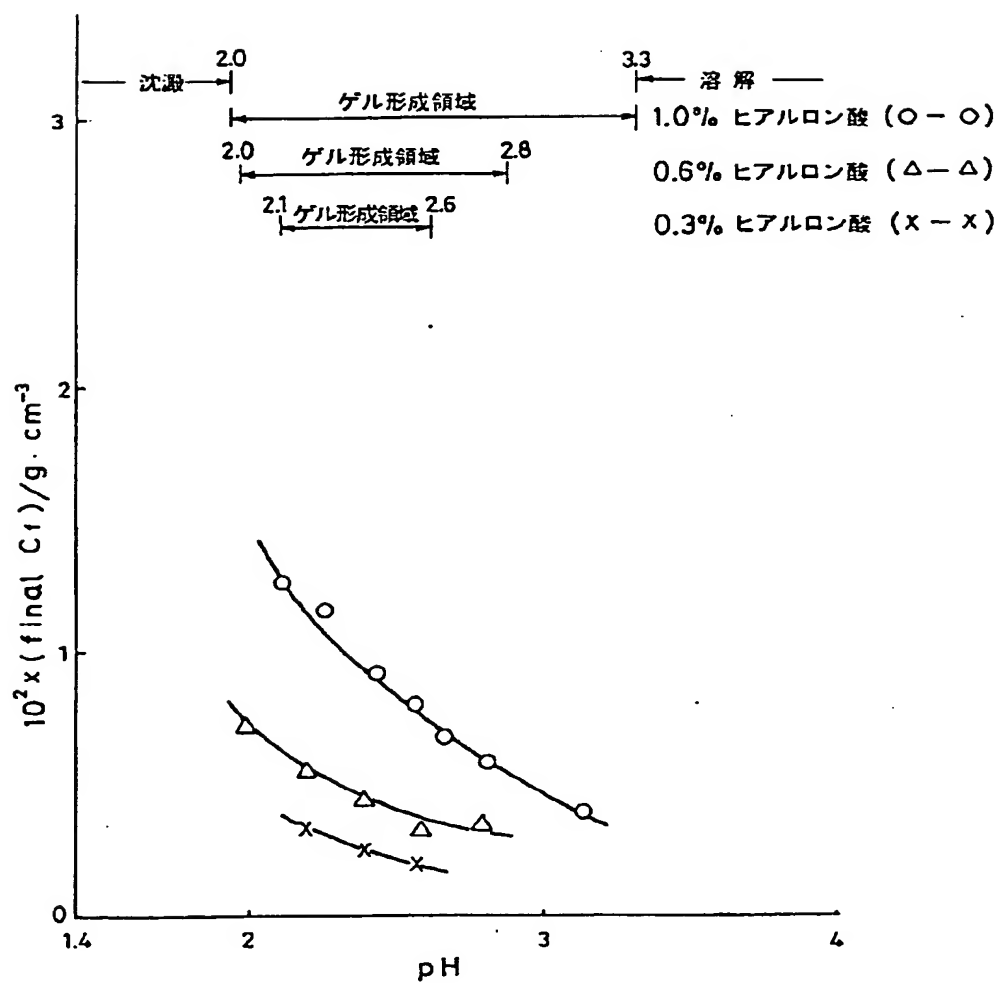
【図3】



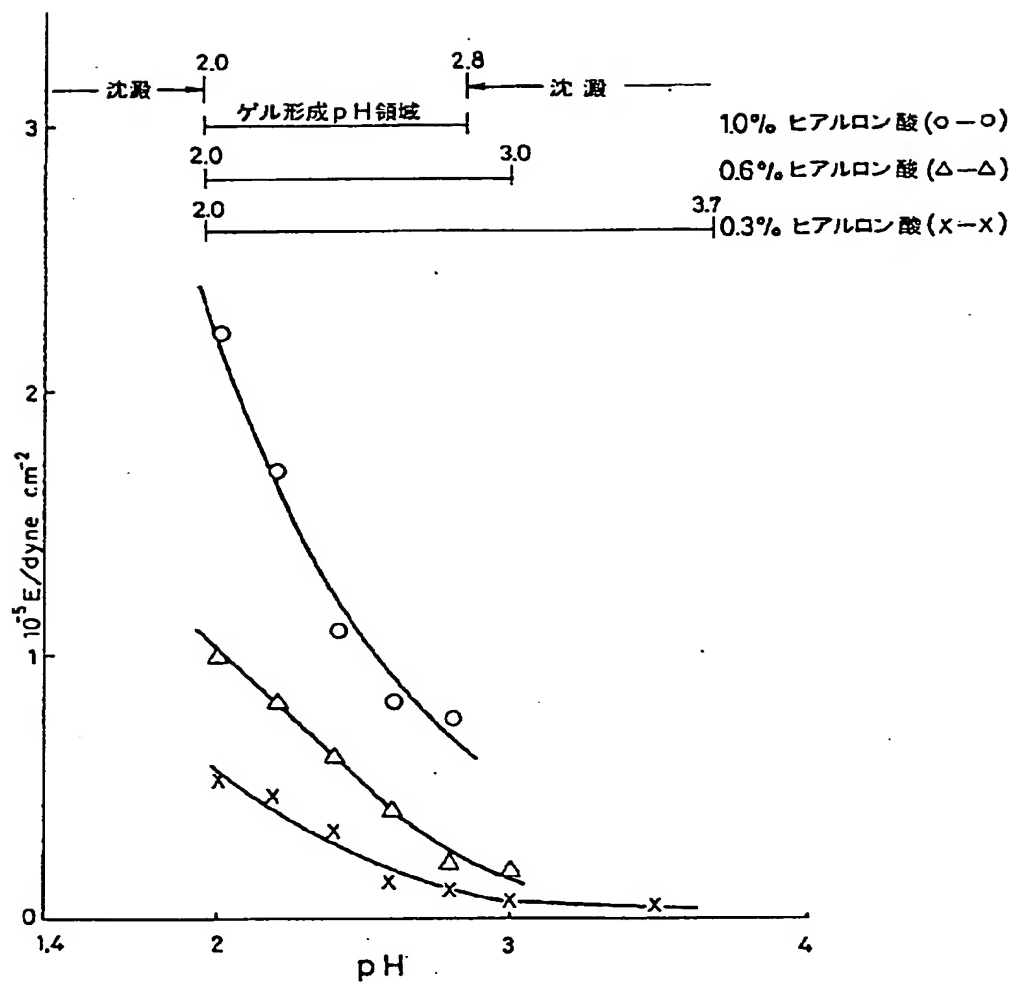
【図4】



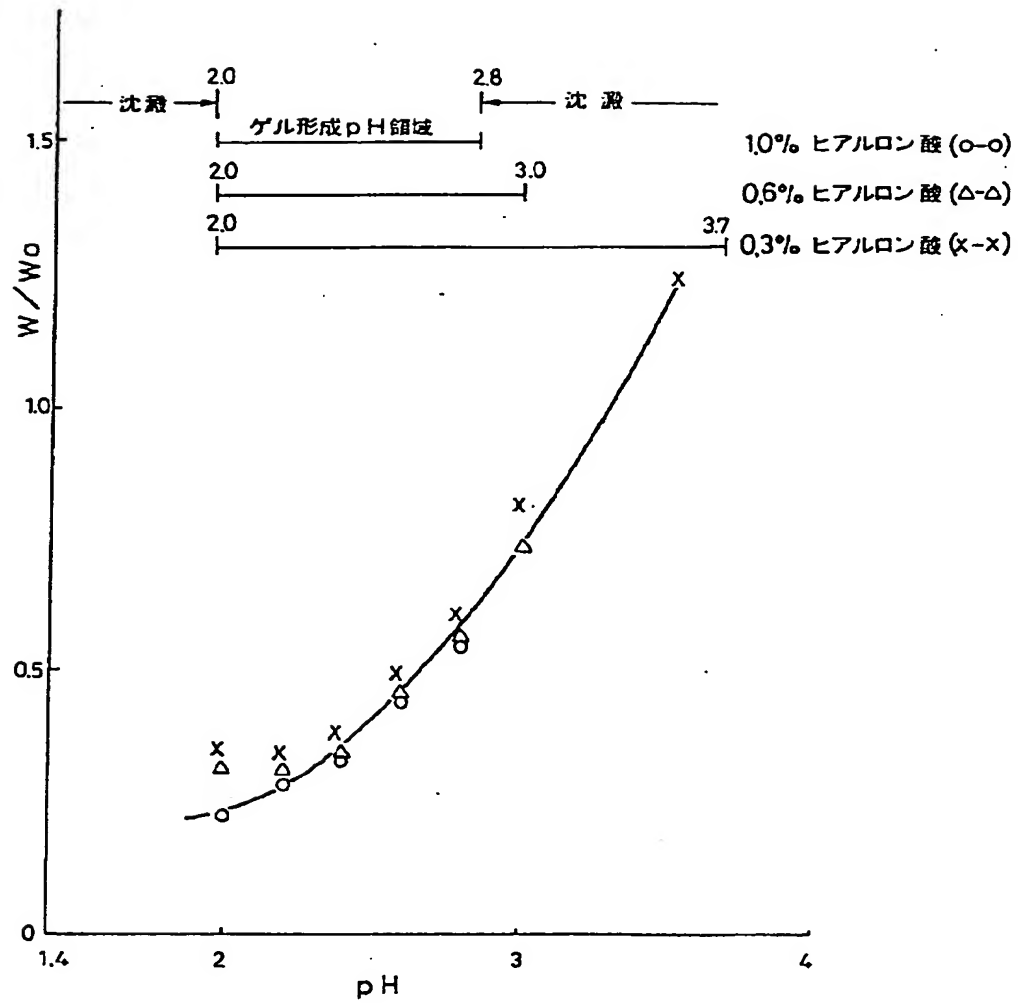
【図5】



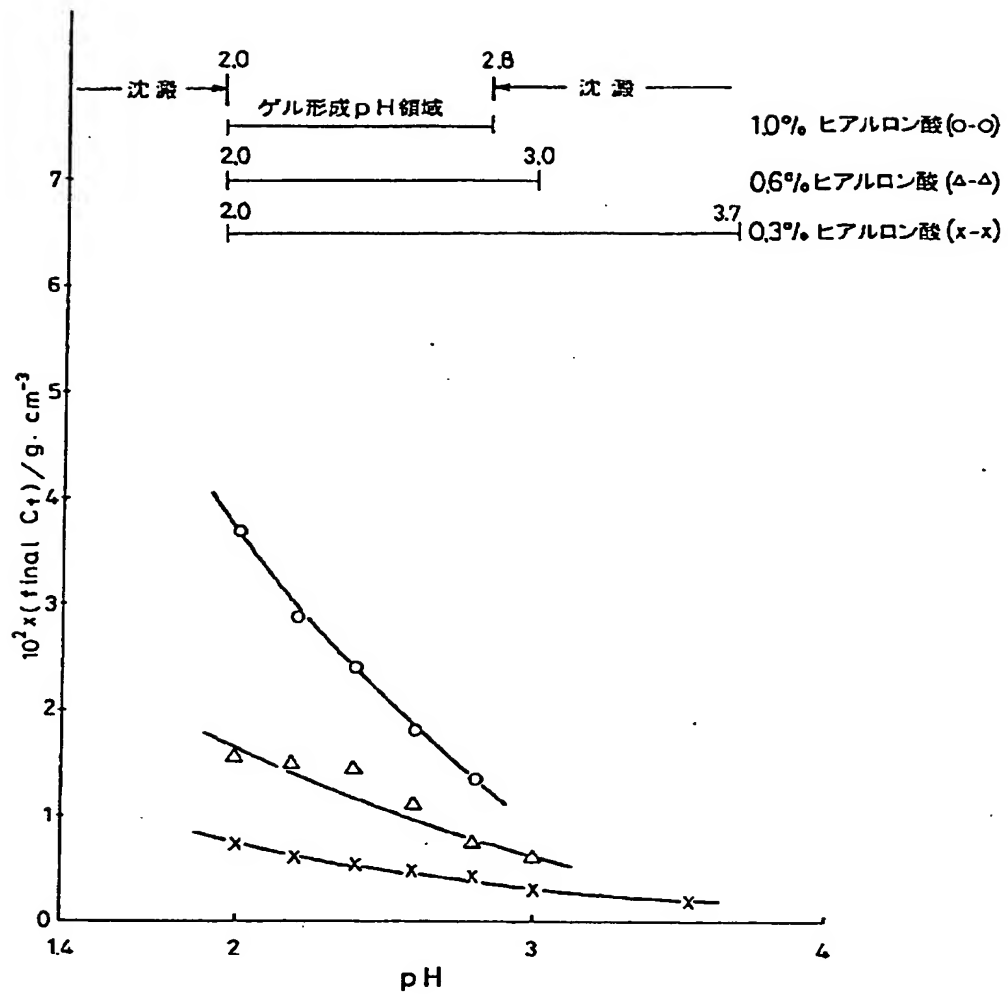
【図6】



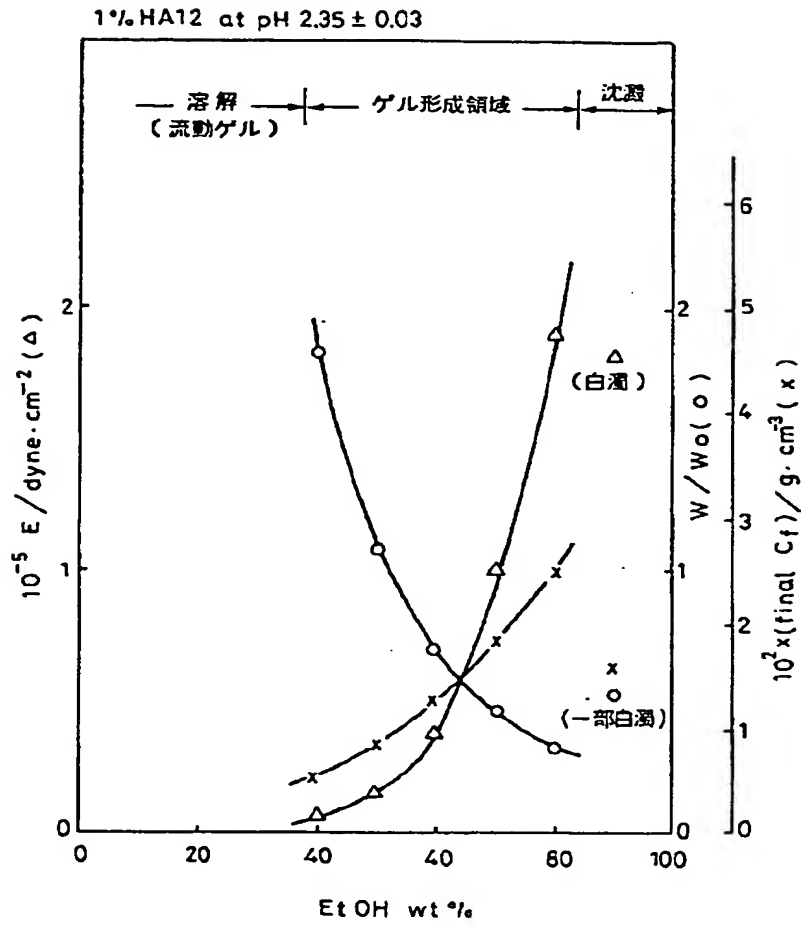
【図7】



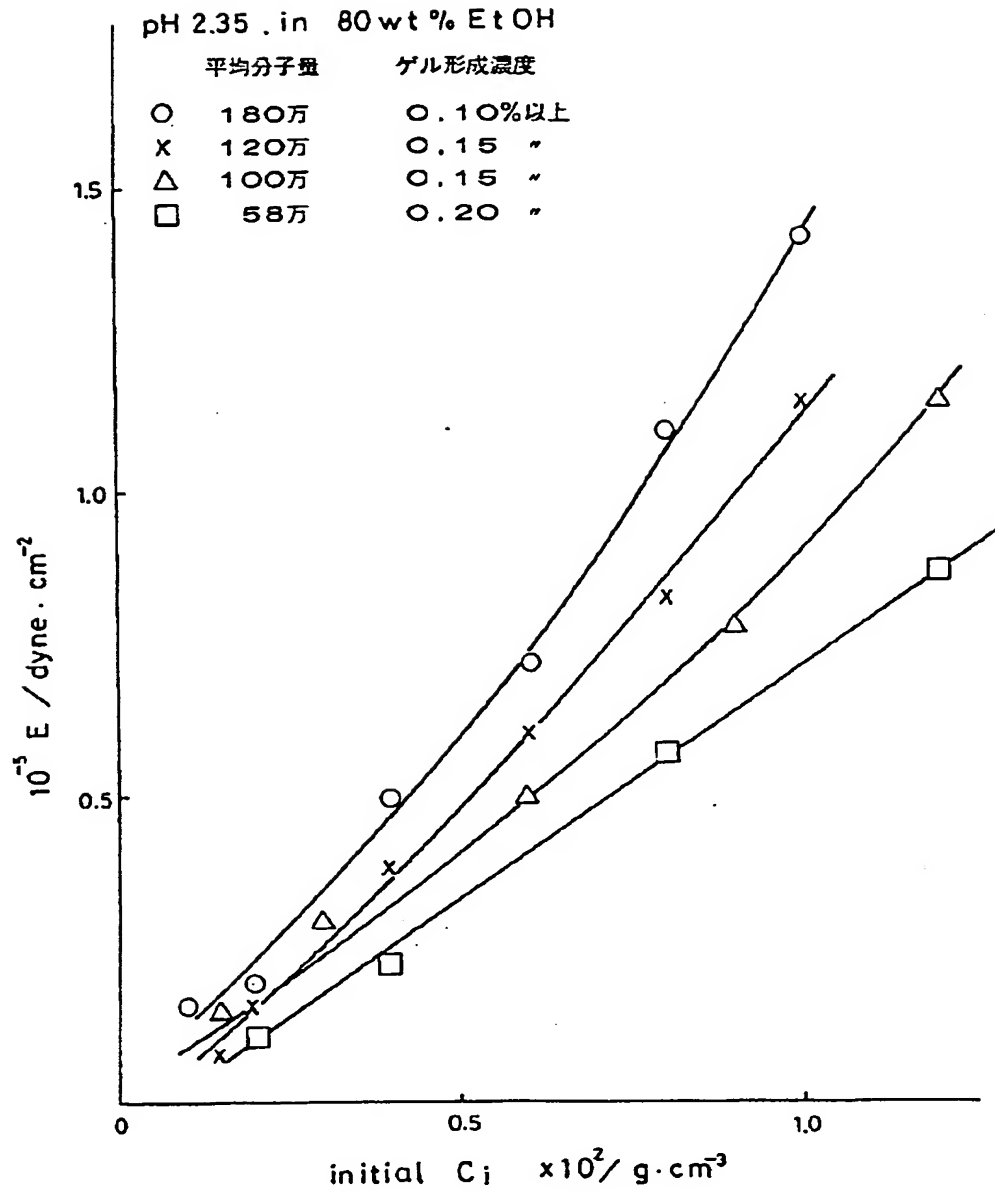
【図8】



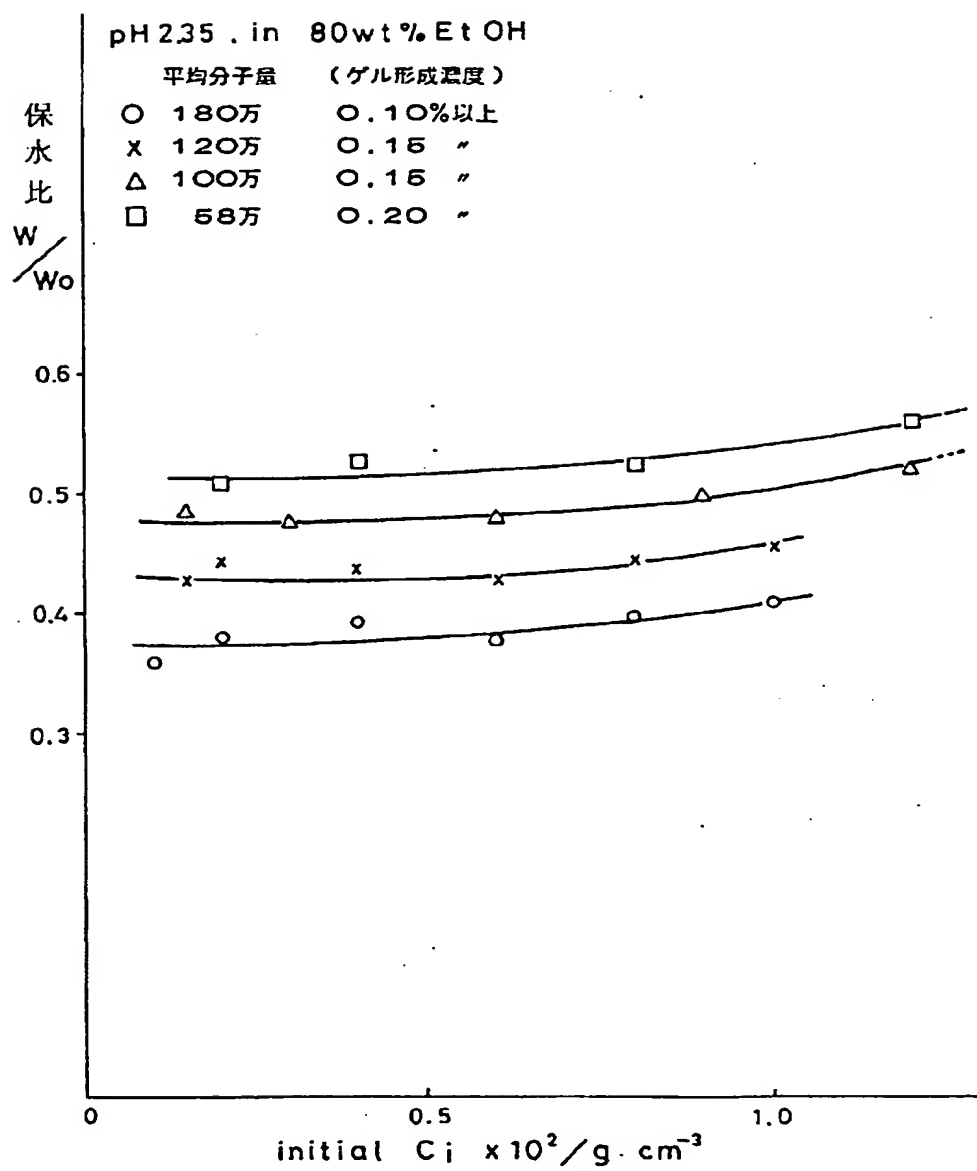
【図9】



【図10】



【図11】



【図12】

